Über die Bindung herzwirksamer Glykoside im Blutserum

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der medizinischen Fakultät

der Universität Basel

vorgelegt von

EMANUEL SUTER

aus Basel

Basel 1944

Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546713_0052

Über die Bindung herzwirksamer Glykoside im Blutserum

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der medizinischen Fakultät

der Universität Basel

vorgelegt von

EMANUEL SUTER

aus Basel

Basel 1944

Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Von der medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von Professor *E. Rothlin*
Tag der Promotion: 28. Januar 1944

Die Dissertation ist veröffentlicht in den Helv. Physiol. Acta **2**, S. 211, 1944

Von verschiedenen Seiten wurde in den letzten drei Jahrzehnten auf neue Funktionen der Eiweißkörper des Blutes für physiologische und pathologische Vorgänge hingewiesen. An die seit langem bekannte Bindung des eisenhaltigen Hämins an ein Globulin reiht sich der von *Willstätter* geprägte Begriff Trägerprotein im Wirkungsmechanismus für Fermente sowie für gewisse Hormone, und für die Bedeutung der Bluteiweißkörper im Wasserhaushalt ist das klinische Bild der Nephrosen ein beredtes Beispiel. 1938 haben *Bennhold-Kylin-Rusznyak* (1) diese Forschungsergebnisse zusammenfassend dargestellt. Sie betrachten die Bluteiweißkörper als «Organ», dessen verschiedenen Fraktionen Funktionen ganz verschiedener Art zukommen. So ist die besondere Rolle des Fibrinogens (Globulin) bei der Blutgerinnung längst anerkannt. Die bedeutendste Fraktion bilden die Albumine, sie tragen, soweit heute bekannt, den Hauptanteil der funktionellen Aufgaben der Bluteiweißkörper. Sie sind im wesentlichen maßgebend für die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes sowie für die von *Bennhold* als Vehikelfunktion bezeichneten Eigenschaften, mit körpereigenen und -fremden Substanzen Bindungen einzugehen und deren Transport bzw. Wirksamkeit zu beeinflussen. Damit finden wir den Anschluß zur Bedeutung der Bluteiweißkörper für die Pharmakologie, die einerseits einen «gezielten» Transport anstrebt und anderseits eine durch die Bindung der Pharmaka abgeschwächte Wirkung als unerwünscht betrachtet. So kennen wir Bindungen von Farbstoffen und von vielen pharmakologisch wirksamen Substanzen an die Bluteiweißkörper, die teils im biologischen Versuche, teils mit Hilfe physikalisch-chemischer Untersuchungsmethoden festgestellt worden sind. Klare Vorstellungen über die Art dieser Bindungen fehlen vorläufig. Sie werden in der Regel als Adsorptionserscheinungen betrachtet.

Für solche Untersuchungen eignen sich die herzwirksamen Glykoside, zumal sie chemisch definierte Körper und pharmakologisch weitgehend charakterisiert sind. Eine infolge Bindung an Eiweißkörper veränderte Wirkung kann am biologischen Testobjekt quantitativ erfaßt werden. Die ersten Versuche auf diesem Gebiete liegen schon mehr als 30 Jahre zurück. *Yernaux* (2) konnte unwirksame Digitoxindosen durch Zusatz von defibriniertem Blut wirksam machen und *Werschinin* (3) fand eine Verstärkung der

Wirkung des Digitalins am Froschherzen, wenn dasselbe in Kaninchenserum verabreicht wurde. *Oppenheimer* (4) hingegen konstatierte, daß Serum Gitalin, Digitoxin und Digitalin in ihrer Wirksamkeit herabsetzte, während defibriniertes Blut diesen Effekt nicht zeigte.

1931 veröffentlichte *Hoekstra* (5) Versuche, ausgeführt einerseits mit isotonischer Bauchhöhlenflüssigkeit – mit einem angeblichen Eiweißgehalt von 0,1–0,25% – und mit Froschserum am Froschherzen, anderseits mit Kaninchen- und Katzenserum in einer Verdünnung von 1:1000 am Kaninchenherzen. Jedesmal prüfte er also das Glykosid in arteigenem und artfremdem Serum. Nur Digitoxin wurde im artfremden Serum gehemmt, währenddem Gitalin, Digitalin, Strophanthin, Lanatoxin, Lanatalin, Digitonin und Helleborein durch Serum überhaupt nicht beeinflußt werden sollen. Er ist der Ansicht, daß nur artfremdes, nicht aber *arteigenes* Serum eine hemmende Wirkung auf Digitoxin ausübt bzw. eine Glykosidbindung eingeht. In der Arbeit vermißt man exakte Angaben über die Anzahl der ausgeführten Versuche und Reinheit der untersuchten Glykoside sowie über die Versuchsbedingungen, besonders über die Temperaturverhältnisse. Dies ist nachteilig, denn auf dem Ergebnis seiner Untersuchungen mit arteigenem und mit artfremdem Serum beruht die Theorie (6), daß der Komplex, arteigenes Eiweißglykosid, als Ganzes in das Herz eindringe, während dies für den Komplex mit artfremdem Serum nicht der Fall ist. Diese Theorie stützt *Hoekstra* auf den Versuch mit Brillantkongorot, welches in Ringer oder arteigenem Serum in das Herz eindringe und dasselbe vergifte, während die Anwesenheit von artfremdem Serum oder Kaninchenbauchhöhlenflüssigkeit diese Wirkung verhindere. Dabei gibt *Hoekstra* selbst an, daß grundlegende Unterschiede zwischen der Bindung Eiweiß–Glykosid und der Bindung Eiweiß–Brillantkongorot bestehen. *Brücke* (7) schließt aus Versuchen am Froschherzen, daß zwischen arteigenem und artfremdem Serum nur ein gradueller Unterschied in der Hemmung der Glykosidwirkung besteht. Unterschiede zwischen arteigenem und artfremdem Serum fanden auch *Genuit* und *Eschbach* (8) am isoliert durchströmten Meerschweinchenherzen. Nur artfremdes Serum verzögerte die Wirkung des Digitoxins. Neben der biologischen Methode ist es möglich, die Glykosid-Konzentration mit Hilfe der Baljetschen Farbreaktion kolorimetrisch zu bestimmen. Leider wird die Methode unbrauchbar, wenn das Lösungsmittel, z. B. Serum, zu hohe Leerwerte aufweist; *Haarmann*, *Hagemeier* und *Lendle* (9). Diese Autoren untersuchten ferner mit der Austauschdialyse die Bindungsverhältnisse verschiedener Glykoside an die Eiweißfraktionen verschiedener Sera. Sie stellten fest, daß die Bindung fast ausschließlich an die Albumine stattfindet und außer Strophanthin und Digilanid C alle untersuchten Glykoside gebunden werden. Das Bindungsvermögen ist sehr groß, 1 mg Albumin bindet 1 γ Digitoxin bzw. 1 Molekül Albumin 10 Moleküle Digitoxin. Danach kann bei therapeutischer Dosierung die gesamte Glykosidmenge gebunden werden.

Haarmann, *Korfmacher* und *Lendle* (10) vertreten die Ansicht, daß die Bindung nicht auf Adsorption, sondern auf Nebenvalenzen, vielleicht der freien Laktongruppe der Glykoside beruht. *Lendle* und *Pusch* (11) bedienten sich für den Nachweis der Bindung der Ultrafiltration von Glykosidlösungen (Digitoxin und Strophanthin) in Serum. Ein Verlust an Glykosid im Ultrafiltrat spricht für eine Bindung an das Eiweiß. Dies war für Digitoxin der Fall, nicht aber für Strophanthin.

Aus diesen Literaturangaben ist eine Bindung gewisser Glykoside an die Eiweißkörper des Serums anzunehmen. Unstimmigkeiten bestehen vor allem in bezug auf das Verhalten von arteigenem und artfremdem Serum sowie im Bindungsgrad der verschiedenen Glykoside. Dies hat seine Ursache besonders bei den älteren Versuchen darin, daß nicht Reinglykoside und keine zureichenden Versuchsbedingungen angewendet wurden. Es war deshalb von Interesse, durch systematische Untersuchungen mit chemisch reinen Glykosiden zu prüfen, ob prinzipielle Unterschiede in der Glykosid-Bindung zwischen arteigenem und artfremdem Serum, und ob und welche Differenzen zwischen den verschiedenen Glykosiden bestehen. Diese Fragen haben wir in vergleichenden Versuchsreihen mit 8 verschiedenen Reinglykosiden am isolierten Froschherzen und unter Anwendung der Ultrafiltration als Kontrolle zu klären versucht. Die Arbeit wurde auf Veranlassung und unter Leitung von Prof. *E. Rothlin* durchgeführt.

Methodik

Als biologischer Test diente das isolierte Froschherz an der Straubschen Kanüle mit einem inneren Durchmesser von 8 mm. Froschart: rana temporaria, Gewicht der Frösche: 30–45 g. Als Nährflüssigkeit wurde stets 1 ccm Ringerlösung, Serum oder Blut verwendet. Sauerstoff wird der Nährflüssigkeit wie der feuchten Kammer zugeführt. Die Versuche wurden in einem temperaturkonstanten Raum bei 17,5 bis 18,5° C vorgenommen. Auch die Frösche wurden im gleichen Raume gehalten. Dies ist wesentlich, da bekanntlich der Temperatureinfluß auf die Empfindlichkeit des Froschherzens groß ist. Dank der Temperaturkonstanz ergibt der Vergleich der Sommer-, Frühjahrs- und Winterresultate eine überraschende Uebereinstimmung in qualitativer und quantitativer Hinsicht. Wir konnten auch keinen Einfluß der Jahreszeiten auf die Bindung der Glykoside an Serum feststellen, wie das *Hoekstra* (5) vermutet, indem er annimmt, daß im Sommer das Serum seine Bindungsfähigkeit verliere.

Das Kriterium für die Beurteilung der Wirksamkeit einer Glykosidkonzentration in den untersuchten Lösungsmitteln ist das Eintreten oder Nichteintreten des systolischen Herzkammerstillstandes innerhalb 7–11 Minuten, wobei sehr häufig die Vorhöfe, die weniger glykosidempfindlich sind, noch einige Zeit weiterschlagen. Durch die Beschränkung der Stillstandszeit auf 7–11 Minuten wird die Streuung der Versuche auf ein Minimum herabgesetzt, denn sowohl längere wie kürzere Zeiten weisen größere Streuung auf.

Die Lösungen der Glykoside wurden stets folgendermaßen hergestellt: Von der reinen kristallisierten Substanz wurde in 0,9%igem Natriumchlorid und in gleicher Menge 95%igem Alkohol eine Stammlösung von 1:1000 oder 1:2000 vorbereitet. Die Stammlösungen wurden dann mit Froschringer, Serum oder Vollblut verdünnt.

Zur Ultrafiltration bedienten wir uns der von *Barkan* (12) beschriebenen Methode. Danach verwendet man Porzellantiegel, die ca. 20 ccm Flüssigkeit fassen, und überzieht sie mit einer Kollodiummembran, hergestellt aus einer 7%igen Eisessig-Kollodiumlösung. Der Tiegel wird auf einen Saugvorstoß aufgesetzt, der in eine Saugflasche eingeführt wird, an die der Schlauch zum Saugluftthahn angesetzt ist. Das Filtrat wird in einem graduierten Reagenzglas aufgefangen. Um im Tiegel trotz der Eindickung die gelösten Substanzen gleichmäßig verteilt zu halten, verwendeten wir ein Rührwerk, bestehend aus einem umgebogenen Glasstabe, der mit Hilfe einer Wasserturbine in Bewegung gesetzt wurde. Der Saugdruck betrug $p_{Hg} = 35–45$ mm. Das Ultrafilter soll echt gelöste Substanzen passieren lassen, kolloiddispers gelöste Stoffe hingegen zurückhalten. In unserem Falle fanden wir also die Glykoside im Filtrat, während die Eiweißkörper des Serums im Rückstande verblieben. Die Undurchlässigkeit des Filters für Eiweiß wurde jeweils mit konz. Salpetersäure und mit 20%iger Sulfosalicylsäure geprüft. Es wurden mehrere Filter nebeneinander betriebsfertig gehalten, dadurch war es möglich, gleichzeitig Glykosid in Ringer und Serum zu ultrafiltrieren und den Konzentrationsverlust beim Versuch mit Serum unmittelbar festzustellen. Denn ein solcher mußte auftreten, wenn das Glykosid an das Eiweiß gebunden war, und wenn die Kraft der Bindung stärker war als die Filtrationskraft.

Versuchsresultate

Vorerst bestimmten wir für jedes Glykosid diejenige Konzentration in Ringerlösung, Serum oder Vollblut, die notwendig war, um am Froschherzen innert 7–11 Minuten systolischen Kammerstillstand hervorzurufen. Wir nennen diese Werte *Standardwerte* für Ringer, Serum oder Blut. Wir untersuchten folgende Glykoside, die uns in reiner kristalliner Form zur Verfügung standen: Digilanid A, Purpureaglykosid A, Digitoxin, Digilanid B, Purpureaglykosid B, Digilanid C (Cedilanid), Scillaren A, k-Strophanthosid (Strophosid). Als Sera wurden verwendet: Rinder-, Frosch-, Katzen-, Menschenserum und Menschenvollblut.

1. Versuche über Glykosidwirkung in Ringer

In der Tabelle 1 sind für die 8 untersuchten Glykoside die Konzentrationen, die durchschnittliche Stillstandzeit sowie das Verhältnis der Konzentrationen für die Versuche mit Ringer und mit Rinderserum angegeben. Für die Auswertung wurde folgendermaßen verfahren. Vorerst wurde durch Eingabeln die Konzentration für die als Maßstab gewählte Stillstandszeit von durchschnittlich 9 Minuten gesucht und dann die Richtigkeit dieser Konzentration im Mittel durch 10 Versuche bestätigt. Dabei wurden nur solche Versuche mitverwertet, bei welchen der Stillstand nicht unter 6 und nicht über 13 Minuten eintrat. Für die Beurteilung der Standardwerte waren aber auch die nicht aufgeführten Versuche wertvoll. Als Beispiel sind die Einzelwerte für Scillaren A in Ringer und in Rinderserum wiedergegeben:

Konzentration in Ringer 1:800000: 8, 12, 10, 11, 10, 9, 12, 10½, 10, 7, 7, 11, 10, 8, 8½, 6, 10, 10, 10, 11, 8, 11, 7, 11, 12½, 10½, 12½, 10½, 13, 10, 8½, 7½, 7, Durchschnitt = 9,5 Min.

Konzentration in Serum 1:200000: 11, 12, 8, 10, 7, 6, 9, 11, 9, Durchschnitt = 9,6 Min.

Tabelle 1. *Standardwerte für den Herzkammerstillstand nach Glykosidvergiftung in Ringer und in Rinderserum*

Glykosid	Glykosidkonzentration		Durchschnittliche Stillstandszeiten in Minuten		Verhältnis der Glykosidkonzentration	
	in Ringer	in Rinderserum	in Ringer	in Rinderserum	Ringer	Serum
Digilanid A . .	1:200000	1: 40000	9,5	10,0	1	5
Purpureaglykosid A	1:250000	1: 50000	8,8	8,7	1	5
Digitoxin . . .	1:150000	1: 30000	8,8	8,8	1	5
Digilanid B . .	1: 50000	1: 25000	9,1	9,6	1	2
Purpureaglykosid B	1:100000	1: 50000	9,2	9,6	1	2
Digilanid C . .	1: 40000	1: 40000	9,3	10,5	1	1
Scillaren A . .	1:800000	1:200000	9,6	9,5	1	4
k-Strophanthosid	1:150000	1:150000	9,5	9,9	1	1

Aus der Tabelle 1 ist die ganz verschiedene Wirksamkeit der untersuchten Glykoside ersichtlich. Gemeinsam ist allen, daß sie in der gesuchten Konzentration einen *systolischen* Kammerstillstand hervorrufen. Die Vergiftung ist je nach Glykosid und Konzentration reversibler oder irreversibler Art. Wir haben dieses Kriterium nicht streng quantitativ verfolgt, weil es zu große Streuungen aufweist und quantitativ unsicher ist. Diese Ringer-Standardwerte wurden in den späteren Versuchen immer wieder bestätigt, da sie bei allen Versuchen zum Vergleich herangezogen werden mußten.

2. Versuche über Glykosidwirkung in Rinderserum

Der größte Teil der Serumversuche wurde mit Rinderserum durchgeführt. Rinderblut vom eben getöteten Tiere ließen wir in gedecktem Becherglas ca. 3–4 Stunden bei 18° stehen, gossen das Serum ab und zentrifugierten dieses 10 Minuten lang bei 3500 Umdrehungen in der Minute. Serum, im Kühlschrank bei + 5–6° C aufbewahrt, verhielt sich in seiner Wirkung an sich und im Glykosidbindungsvermögen bis 3 Wochen lang gleich wirksam. In der Regel wurde nur 1–4 Tage altes Serum verwendet.

Wirkung des Blutserums auf das Froschherz

Vorerst ist die Wirkung des Serums allein auf das Froschherz zu beschreiben, weil dies einen Eigeneffekt verursacht, der sich evtl. in unseren Versuchen störend auswirken kann. Alle oben genannten Autoren verwendeten verdünnte Sera, wohl in der Annahme, das Serum könne zufolge seiner Hypertonie und seiner Eigenwirkung das Froschherz schädigen, so daß die Wirkung des Glykosids nicht mehr einwandfrei beurteilt werden könne. Ersetzt man Ringer durch unverdünntes Rinderserum, so stellten wir regelmäßig, gleichgültig ob altes oder frisches Serum verwendet wird, folgendes fest: Bei gleichbleibender Frequenz nimmt innert 30 Sekunden die Hubhöhe bis auf $\frac{1}{3}$ des Ausgangswertes ab. Nach durchschnittlich 5–10 Minuten, gelegentlich aber auch schneller, erholt sich das Herz und erreicht bei regelmäßigem Rhythmus Hubhöhen, die die Anfangswerte bis um $\frac{1}{4}$ übersteigen. Auswaschen mit Ringer beschleunigt dieses Intensiverwerden der Herzaktion. Diese Wirkung des Serums ist vorübergehend, und nach 50 bis 60 Minuten schlägt das Herz wieder wie vor Serumzusatz. Solche Herzen erweisen sich mit der für Serum normalen Glykosiddosis vergiftbar. Diese Eigenwirkung des unverdünnten Serums auf das Froschherz nennen wir *Serumeffekt* (Abb. 1). Sie beruht auf einer kurzen primären Hemmung und sekundären anhaltenden Förderung. Kontroll-Versuche haben ergeben, daß die Glykosidwirkung im genuinen und im ultrafiltrierten Serum identisch ist, das heißt, der sogenannte Serumeffekt hat auf die Stillstandszeit keinen wesentlichen Einfluß.

Ultrafiltration von Serum: a) Das *Ultrafiltrat* des Serums verursachte am Herzen den ausgesprochenen Serumeffekt. Abb. 1 zeigt, daß gegenüber genuinem Serum kein Unterschied besteht. b) Der *Filterrückstand* wurde durch Hinzufügen von Froschringer auf das ursprüngliche Volumen gebracht. Nach einmaliger Filtration und Ergänzung des Volumens zeigte der Rückstand ebenfalls den Serumeffekt, aber im Vergleich zu genuinem Serum und Ultrafiltrat in abgeschwächtem Maße. Nach mehrmaligem Filtrieren und Wiederauffüllen mit Ringer zur Ausgangsmenge beeinflußte der Rückstand die Tätigkeit des Herzens nicht mehr. Der Rückstand ist indifferent geworden (Abb. 1); das oder die wirksamen Prinzipien des Serumeffektes sind somit vollständig ultrafiltrierbar.

Auf Grund dieser Analyse sind wir nicht nur berechtigt, *unverdünntes* Serum zu verwenden, sondern wir erfassen nur auf diese Weise den Einfluß des Serums auf die Glykosidwirkung vollständig. Die im folgenden angeführten Resultate beziehen sich immer auf unverdünntes Serum, gleich welcher Herkunft.

Tabelle 1 gibt im Stab 3 die Konzentrationen der Standardwerte für Rinderserum wieder. Auffallend ist zunächst der *quantitative* Unterschied im Verhalten der verschiedenen Glykoside: die Wirkung des *Strophosids* und

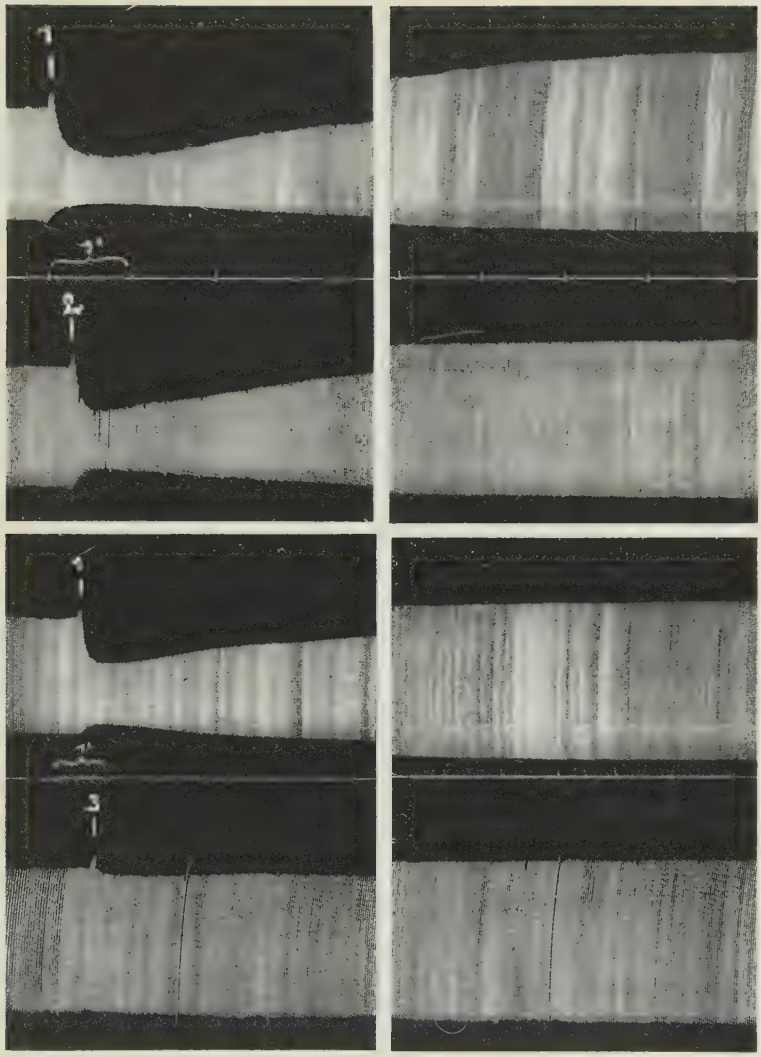

Abb. 1. *Versuch am isolierten Froschherzen.*

Serumeffekt des Rinderserums (1) auf das Froschherz verglichen mit der Einwirkung des Filtrates (2) und des Rückstandes (3) nach Ultrafiltration von Rinderserum. Bei 1 und 2 links Phase der Hemmung, rechts Phase der Förderung. Der Serumrückstand, nach 3maligem Ultrafiltrieren auf das ursprüngliche Volumen gebracht, beeinflußt die Herztätigkeit nicht. Zeitlicher Abstand zwischen rechtem und linkem Teil der Abbildung beträgt 6 Minuten.

des *Digilanid C* wird durch das Serum gar nicht beeinflußt; von Digilanid A, Purpureaglykosid A, Digitoxin sind 5fache, von Scillaren A die 4fache Glykosidmenge notwendig, um in Rinderserum in der verlangten Zeit den Herzstillstand herbeizuführen wie in Ringer. Es handelt sich somit um eine bei dieser Glykosidgruppe unerwartet starke Bindung dieser Glykoside in Serum. Digilanid B und Purpureaglykosid B erfordern hingegen nur 2mal mehr Glykosid in Serum wie in Ringer. Sie werden weniger stark durch das Serum gebunden und nehmen eine Mittelstellung ein zwischen den nicht und den stark gebundenen Glykosiden. Abbildung 2 gibt die Verhältniszahlen für Ringer und Rinderserum in graphischer Darstellung wieder.

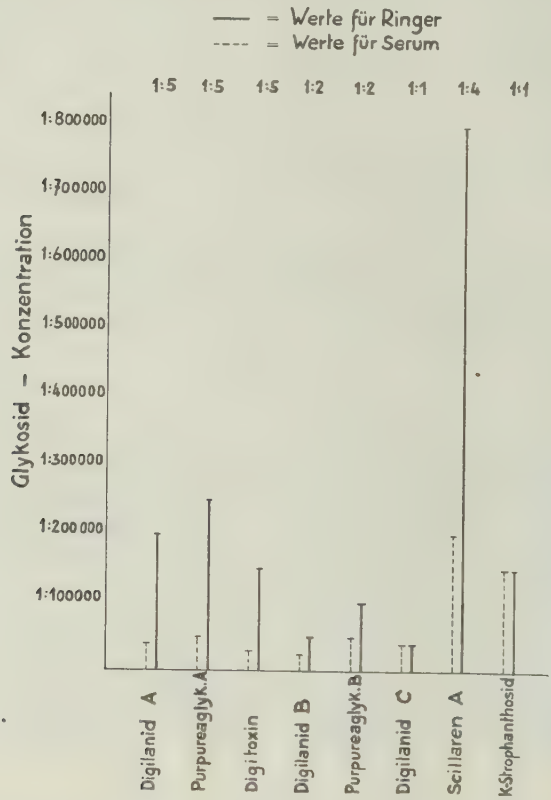

Abb. 2.

Graphische Darstellung der Standardwerte für die Glykosidwirkung in Ringer und in Rinderserum.

Qualitative Unterschiede gegenüber der Wirkungsweise in Ringer sind: 1. Die Herzen stehen in Serum in der Regel nicht wie in Ringer in maximaler Systole, sondern in Mittelstellung still; 2. tritt oft vor dem Stillstand eine

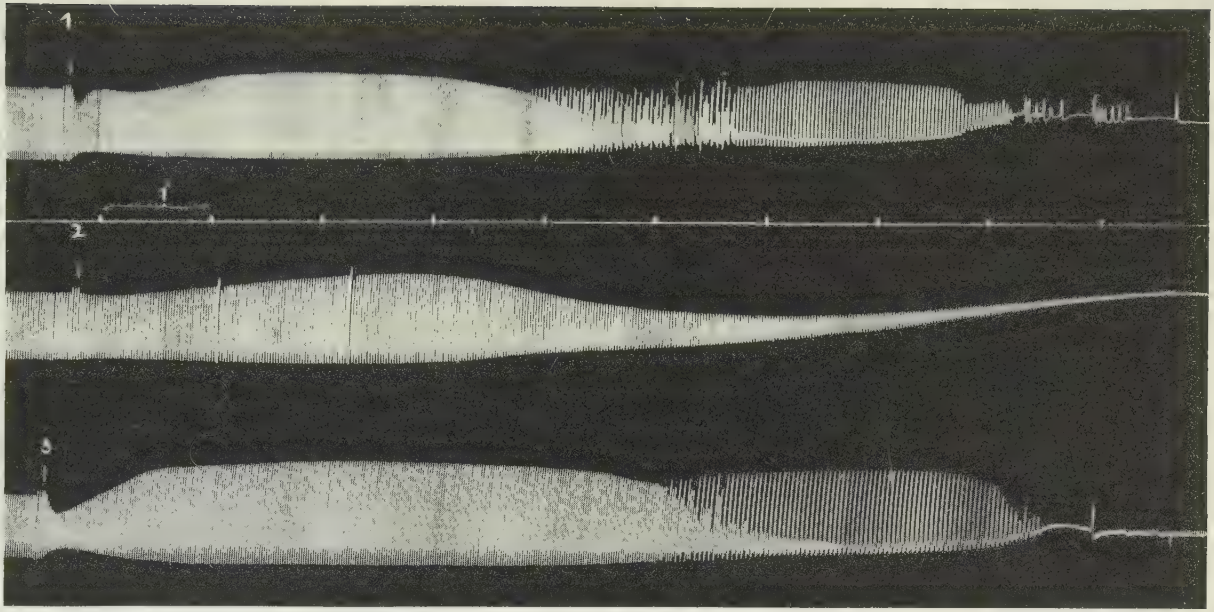

Abb. 3. *Versuch am isolierten Froschherzen.*

Digilanid A 1:200000 in Ringer (2) und 1:35000 in Katzenserum (1). Zum Vergleich Diginalid C 1:40000 im gleichen Serum (3). Beide mit Serumlösungen vergiftete Herzen (1 und 3) stehen nach einer Arhythmie-Endphase von 4–5 Minuten in Mittelstellung still. Digilanid C in Ringer erfordert für dieselbe Stillstandszeit ebenfalls eine Konzentration von 1:40000.

Arhythmie, besonders Bigeminie auf, während welcher die Ausschläge wieder erhöht sind (Abb. 3); und 3. die Glykosidwirkung in Serum ist leichter reversibel als nach Vergiftung mit Glykosid-Ringerlösung. Reversibelnennen wir, wenn nach mehrmaligem Auswaschen das Herz in regelmäßigem evtl. verlangsamtem Rhythmus mit annähernd normaler Hubhöhe schlägt. Die Reversibilität für die einzelnen Glykoside ist recht verschieden, sie ist am besten für Scillaren A, am geringsten für Digitoxin, sie gelingt stets deutlich besser nach Vergiftung in Serum als in Ringer, was bei der angewandten Konzentration der Standardwerte besonders für Digitoxin auffällt; nach der Vergiftung mit Digitoxin in Ringer ist der Stillstand in der Mehrzahl der Fälle irreversibel.

Ferner untersuchten wir die Wirkung der Standard-Glykosidkonzentration im Filtrat und im Rückstand nach Ultrafiltration des Rinderserums. Das Filtrat, das allein auf das Herz quantitativ und qualitativ denselben Effekt wie das Serum ausübt, beeinflußt die Glykosidwirkung in keiner Weise. Wir fanden also die gleichen Stillstandskonzentrationen wie in Ringerlösung. Der Rückstand, in beschriebener Weise auf das Anfangsvolumen gebracht, hemmt hingegen die Glykosidwirkung in gleicher Weise wie das genuine Serum (Abb. 4).

Aus diesen Resultaten kann man folgende Schlüsse ziehen:

1. Genuines Serum und Serum-Ultrafiltrat haben dieselbe Eigenwirkung auf das Froschherz. Der Serumeffekt ist somit ultrafiltrierbar.

2. Genuines Serum hemmt die Wirkung verschiedener Glykoside, Serumultrafiltrat hingegen nicht.

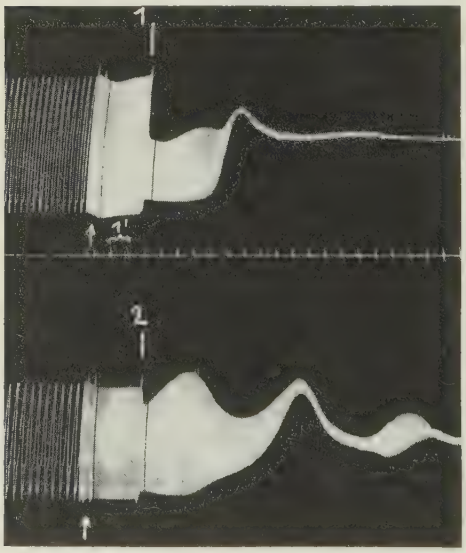

Abb. 4. *Versuch am isolierten Froschherzen.*

Scillaren A 1:200000 in Rinderserum (1) und im Rückstande (2), gewonnen nach 3maliger Ultrafiltration von Rinderserum und Wiederauffüllung auf das ursprüngliche Volumen. Kammerstillstand bei 1 nach 6½ und bei 2 nach 9½ Minuten. In beiden Fällen besteht gleichstarke Hemmung der Scillaren A-Wirkung. Ringerlösung erfordert von Scillaren A nur 1:800000 für dieselbe Stillstandszeit.

3. Die Glykosidhemmung kann somit nicht mit dem Serumeffekt in ursächlichem Zusammenhang stehen, denn sonst müßte auch das Serum-Ultrafiltrat die gleiche Glykosidhemmung aufweisen wie das Serum, was nicht zutrifft. Vor allem wäre auch das Fehlen der Glykosidhemmung von Strophanthosid und Digilanid C in Serum nicht zu verstehen.

4. Nach gründlicher Ultrafiltration bewirkt der Serumrückstand keinen Serumeffekt, hingegen eine gleichstarke Glykosidhemmung wie genuines Serum. Letztere Wirkung ist somit an die nicht ultrafiltrierbaren Eiweißkörper gebunden.

3. Versuche mit Ultrafiltration von Glykosiden in Ringer und in Serum gelöst

Zunächst stellten wir fest, daß schon bei der Ultrafiltration von in Ringer gelösten Glykosiden ein Verlust auftritt. *Hoekstra* (5) gab deswegen die Versuche auf. Es zeigte sich aber, daß durch Filtration einer größeren Lösungsmenge im Filtrat allmählich der Glykosidgehalt ansteigt, um nach weiterer Filtration den *Ausgangswert* zu erreichen. Diese Erscheinung ist auf die Adsorption des Glykosids an das Filter zurückzuführen, die einen gewissen Sättigungsgrad aufweist. Als Beispiel führen wir die Resultate der Ultrafiltration von Scillaren A 1:800000 in Ringer an. Diese Lösung bewirkt einen systolischen Stillstand nach durchschnittlich 9,6 Minuten. 20 ccm werden ultrafiltriert. Die 3 Fraktionen von je 5 ccm haben folgende Wirksamkeit: 1. Fraktion kein Stillstand, 2. Fraktion Stillstand nach 30 und 3. Fraktion nach 20 Minuten. Werden hingegen 50 ccm Lösung ultrafiltriert, so bewirkt das Filtrat der letzten 5 ccm einen Herzstillstand nach 11 Minuten. Um die Filtersättigung rascher zu erreichen und um wirksame Ultrafiltrate zu erhalten, ließen wir erst stärkere Glykosidlösungen in Ringer oder Serum, als den Standardwerten entsprach, das Filter passieren. Dann setzten wir den Versuch mit 20 ccm an, entnahmen das Filtrat in Fraktionen von je 4 ccm, also total 16 ccm, und ergänzten den Rückstand mit Ringer auf 20 ccm. Bei Serumversuchen begnügten wir uns in einzelnen Fällen für die letzte Fraktion mit 2,5 ccm und ergänzten den Rückstand entsprechend mit weniger Flüssigkeit. Die Auswertung erfolgte derart, daß für jede Fraktion und für jeden Rückstand diejenige Verdünnung gesucht wurde, die den systolischen Stillstand innert ca. 9–10 Minuten herbeiführte. Auf diese Weise konnte festgestellt werden, ob beim Serumversuch im Vergleich zum Ringerversuch im Filtrat ein Verlust auftrat und ob im Rückstand zusammen mit den Eiweißkörpern auch das Glykosid konzentriert worden war. In der Tabelle 2 sind die Versuchsresultate zusammengestellt. Es fällt zunächst auf, daß für Strophosid und für Digilanid C im Ringer- und im Serum-Ultrafiltrat die gleichen Verdünnungen zum Stillstand führten. Ein Beweis, daß bei der Ultrafiltration mit Serum für diese beiden Glykoside kein Verlust auftritt. Die Resultate entsprechen daher den *Standard*werten über

Tabelle 2.

Glykosid	Standardwerte Ringer | Serum in Tausendern	F.	Ultrafiltration-Ringer: Filtrat Verd.	Filtrat Stillstand in Minuten	Rückstand Verd.	Rückstand Stillstand in Minuten	F.	Ultrafiltration-Serum: Filtrat Verd.	Filtrat Stillstand in Minuten	Rückstand Verd.	Rückstand Stillstand in Minuten
Digilanid A	1:200 | 1: 40	I	5	10 > 48			I	1	7 8	5	8 5
		II	5	11 13	10	19,5 9,5	II	1	10		
	Konz. d. filtr.	III	5	10				1,5	>39		
	Lösg. = 1: 20		6	> 61			III	1,5	26		
		IV	6	11,5 8,5			IV	1,5	32 10 >53		
Digitoxin	1:150 | 1: 30	I	6	14 > 66	15	9 13	I	1	7,5	5,25	7 6,5 6,5
								2	>37		
	Konz. d. filtr.	II	6	11 12			II	2	8,5 8,5		
	Lösg. = 1: 10	III	6	11 20			III	1,5	6,5		
								1,5	19		
		IV	6	11,5 3,5			IV	1,5	15,5 >32		
Digilanid B	1: 50 | 1: 25	I	3	8	5	9,5 6,5	I	1	5,5	5	7 9
			4	8				1,5	9		
	Konz. d. filtr.	II	4	12 11			II	1,5	20 22		
	Lösg. = 1: 10	III	4	8			III	1,5	4,5		
			5	9				2	16,5		
		IV	5	8 10			IV	1,75	7 9		
Digilanid C	1: 40 | 1: 40	I	2	9	5	11 12	I	2	10	5	6,5 13
			3	11				3	11		
	Konz. d. filtr.	II	3	8,5 10			II	3	6		
	Lösg. = 1: 10	III	3	10				4	11		
			4	10,5			III	4	9 7		
		IV	4	9,5 4			IV	4	15 7		
Scillaren A	1:800 | 1:200	I	4	10	5	10	I	1	>60	5	10,5 7 7
		II	4,5	16			II	1	>68		
	Konz. d. filtr.	III	4,5	11			III	1	>48		
	Lösg. = 1:100	IV	4,5	8			IV	1	8		
		V	5	8							
k-Strophanthosid	1:150 | 1:150	I	1,5	16 5		fehlt	I	1	14 6	3,66	33 9,5
		II	1,5	6 7,5			II	2	15 >30		11 16
	Konz. d. filtr.	III	1,5	6,5			III	2	16 29 5,5		
	Lösg. = 1: 50		2	13							
		IV	2	18 8			IV	2	6 10,5		
		V	2 (3)	9,5 (11,5)							

Glykosidbindung durch Serum, beide bestätigen sich gegenseitig. Bei den übrigen Glykosiden hingegen treten deutliche Verluste auf, was nach den Erfahrungen über die Glykosidbindung durch Serum zu erwarten war. Wichtig ist aber die Feststellung, daß im Serumrückstand die Glykoside konzentriert wurden; anders ist die Tatsache nicht zu erklären, daß z. B. für Scillaren A der 5fach verdünnte Rückstand 1:100000 am Herzen genau gleich wirksam ist wie Scillaren A 1:200000 in Serum gelöst. Für die 3 anderen Glykoside, Digitoxin, Digilanid A und Digilanid B, welche durch Serum gebunden werden, gilt dasselbe.

Wir sind uns bewußt, daß diese Methode in quantitativer Hinsicht ungenau ist, aber für den qualitativen Nachweis einer Bindung der Glykoside an den kolloidalen Anteil des Serums ist sie brauchbar. Sie zeigt uns, daß die Glykosidbindungskraft durch Serum stärker ist als der Filtrationsdruck.

4. Versuche mit Serum von Frosch, Katze und Mensch

a) *Froschserum:* Dieses Serum gewannen wir folgendermaßen: Das gut abgetrocknete Tier wurde geköpft und über ein Glas gehalten, in dem das Blut tropfenweise aufgefangen wurde. Nach 2–3 Stunden gossen wir das Serum ab und zentrifugierten. Das Froschserum allein bewirkt ebenfalls den Serumeffekt des Rinderserums, mit dem Unterschied, daß die Erholung eher rascher eintritt als mit Rinderserum. Die Vorversuche mit Glykosiden in Froschserum verliefen wie jene mit Rinderserum, deshalb beschränkten wir die eingehendere Untersuchung auf die typischen Vertreter: Scillaren A, Digitoxin und Digilanid C. Tabelle 3 gibt die gefundenen Konzentrationen für die geforderte Stillstandszeit wieder sowie das Verhältnis mit den entsprechenden Ringerstandardwerten. Letztere wurden zur Kontrolle wieder gleichzeitig durchgeführt, um sicher zu sein, daß nicht eine verschiedene Empfindlichkeit oder äußere Einflüsse (Jahreszeit, Wetter) die Ergebnisse verwischten.

Auf Grund dieser Resultate kommen wir zum Schluß, daß grundsätzlich zwischen *artfremdem* und *arteigenem* Serum in bezug auf die Beeinflussung der Wirkungsintensität der herzwirksamen Glykoside *kein* Unterschied besteht. Hingegen erweist sich in unseren Versuchen das arteigene Froschserum für Digitoxin etwas schwächer, für Scillaren A etwas stärker wirksam als Rinderserum. Der Unterschied ist nicht groß und liegt wahrscheinlich im Bereiche der Fehlergrenzen des biologischen Versuches.

b) *Katzenserum:* Das Blut entnahmen wir dem nüchternen, mit Aether narkotisierten Tiere aus der Arteria carotis communis. Nach 2 Stunden wurde das Serum abgegossen und zentrifugiert. Das Serum allein übt auf das

Anmerkung zu nebenstehender Tabelle 2: Ergebnisse der Ultrafiltration der Glykoside in Ringer und Rinderserum gelöst. Für jede Filtratfraktion und für den Rückstand sind Verdünnung und Stillstandszeit angegeben. Wo kein Stillstand eingetreten ist, ist die Dauer der Beobachtung in Minuten vermerkt. F. bedeutet Fraktion.

Herz genau den gleichen Serumeffekt aus wie Rinderserum. Die gefundenen Konzentrationen bzw. Verhältniszahlen zu Ringer sprechen für dasselbe Glykosid-Bindungsvermögen wie für Rinderserum (Tab. 3). Abbildung 3 zeigt diese Verhältnisse für Digilanid A und Digilanid C.

c) *Menschenserum:* Blutentnahme durch Punktion der Vena cubitalis am nüchternen Menschen und übliche Serumgewinnung. In die Kanüle gebracht bewirkt auch dieses Serum den charakteristischen Serumeffekt mit sofortiger Abnahme der Hubhöhe ohne Veränderung der Herzschlagfolge und nachfolgender spontaner Erholung. Die Versuche ergeben (Tab. 3), daß diejenigen Glykoside, die durch Serum gehemmt werden, durch Menschenserum noch in *stärkerem Maße* beeinflußt wurden als durch Serum von Rind,

Tabelle 3. *Standardwerte für Serum von Frosch, Rind, Katze und Mensch sowie Menschenvollblut verglichen mit den Standardwerten in Ringer*

Serum	Glykosid	Konzentration	Durchschnittliche Stillstandszeit in Minuten	Vergleich Ringer : Serum
Frosch	Digitoxin	1: 40000	9,7	1 : 3,8
	Digilanid C	1: 40000	11,2	1 : 1
	Scillaren A	1:200000	14,0	1 : > 4
Rind	Digilanid A	1: 40000	10,0	1 : 5
	Purpureaglykosid A	1: 50000	8,7	1 : 5
	Digitoxin	1: 30000	8,8	1 : 5
	Digilanid B	1: 25000	9,6	1 : 2
	Purpureaglykosid B	1: 50000	9,6	1 : 2
	Digilanid C	1: 40000	10,5	1 : 1
	Scillaren A	1:200000	9,5	1 : 4
	k-Strophanthosid	1:150000	9,9	1 : 1
Katze	Digilanid A	1: 35000	8,0	1 : 5,7
	Digitoxin	1: 30000	8,1	1 : 5
	Digilanid C	1: 40000	9,1	1 : 1
	Scillaren A	1:250000	8,72	1 : 3,2
	k-Strophanthosid	1:150000	10,0	1 : 1
Mensch	Digilanid A	1: 15000	8,4	1 : 10
	Digitoxin	1: 20000	8,0	1 : 7,5
	Digilanid C	1: 40000	9,0	1 : 1
	Scillaren A	1:100000	6,9	1 : 7
	k-Strophanthosid	1:150000	10,0	1 : 1
Menschenblut (Heparin)	Digilanid A	1: 20000	8,8	1 : 10
	Digitoxin	1: 20000	9,3	1 : 7,5
	Digilanid C	1: 40000	7,3	1 : 1
	Scillaren A	1:200000	10,0	1 : 4,5
		1:150000	6,5	
	k-Strophanthosid	1:150000	8,0	1 : 1

Frosch und Katze. Hingegen ist die Wirkungsintensität von Strophosid und Digilanid C in Menschenserum wieder gleich wie in Ringer.

d) *Menschenvollblut:* Das vom nüchternen Menschen gewonnene Blut versetzten wir mit dem Heparinpräparat «Liquemin Roche». 1 mg Liquemin auf 10 ccm Blut genügte, um die Gerinnung über eine Woche zu verhindern. Nach gutem Durchmischen filtrierten wir das Blut durch ein Gazefilter. Kontrollversuche mit derselben Heparin-Konzentration in Ringer ergaben, daß Heparin an sich auf das Froschherz keine Wirkung ausübt und die Glykosidwirkung nicht beeinflußt wird. Das heparinisierte Menschenblut hat am Froschherz keinen Einfluß auf die Frequenz, hingegen wird die Hubhöhe leicht erhöht. Diese Wirkung ist wahrscheinlich ausschließlich durch die größere Viskosität des Blutes (Erythrozyten), also mechanisch bedingt. Der eigentliche Serumeffekt fehlt vollständig (Abb. 5). Hingegen verhält sich heparinisiertes Menschenvollblut in bezug auf die Hemmung der Glykosidwirkung genau gleich wie das Menschenserum. Dies ergibt sich aus den Versuchsresultaten der Tabelle 3 und die Abbildung 6 illustriert diese Verhältnisse für Digilanid A und Strophosid.

Bei den Versuchen mit Vollblut machten wir die Beobachtung, daß Blut, das über 12 Stunden alt ist, für den Froschversuch unbrauchbar wird, indem

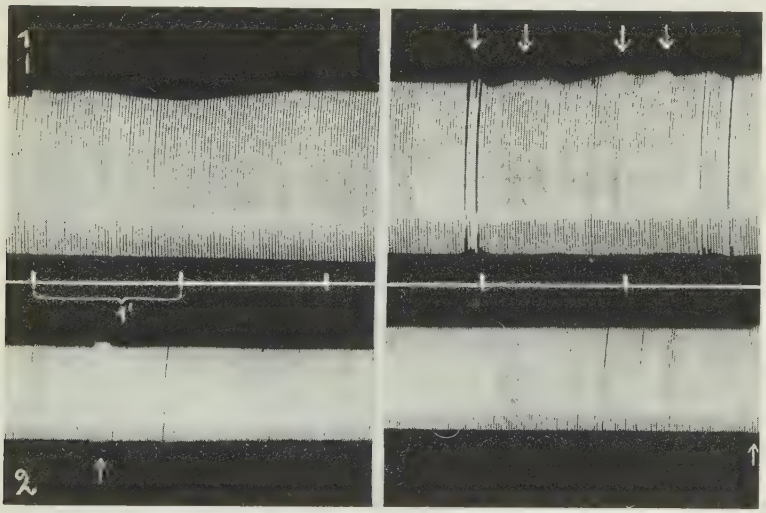

Abb. 5. *Versuch am isolierten Froschherzen.*

Einfluß des frischen mit Heparin ungerinnbar gemachten Menschenblutes auf das Froschherz (1). Der Serumeffekt bleibt aus. Auch Auswaschen mit Ringerlösung (= ↑) verändert die Herztätigkeit nicht. Unten (2) zum Vergleich ein frisches Herz, das nur mit Ringer beschickt und ausgewaschen wird.

Zwischen links und rechts Intervall von 5 Minuten. Das Zeitsignal ist rechts etwas nach unten verschoben worden.

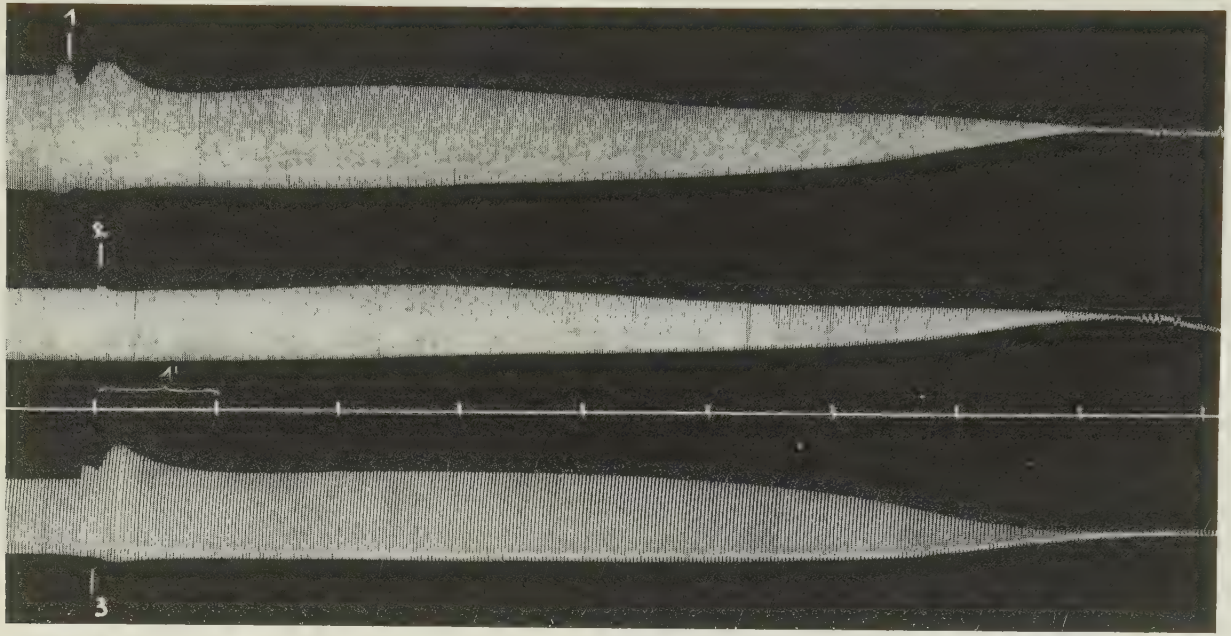

Abb. 6. *Versuch am isolierten Froschherzen.*

1. Digilanid A 1:20000 in Menschenblut mit Heparinzusatz. Digilanid A in Ringer erfordert für dieselbe Stillstandszeit 1:200000. 2. k-Strophanthosid 1:150000 in Ringer und 3. k-Strophanthosid in Menschenblut. Alle 3 Herzen stehen nach 8 Minuten still. k-Strophanthosid erfährt durch das Blut keine Hemmung.

es, ins Herz gebracht, innert 10–20 Sekunden einen diastolischen Stillstand hervorruft. Nach Auswaschen mit Ringer beginnt das Herz sofort wieder zu schlagen, und zwar mit gleicher Frequenz aber stärkerer Hubhöhe als vor dem Stillstande. Dieser Effekt ist mit dem gleichen Blut am gleichen Herzen mehrmals wiederholbar. Das Herz wird anscheinend dadurch nicht geschädigt. Wir vermuten, daß es sich um einen Effekt von Kaliumionen handelt, die aus den Erythrozyten ausgetreten sind.

Da alle andern Autoren ihre Untersuchungen mit verdünnten Sera durchgeführt haben, untersuchten wir Scillaren A und Digitoxin, die beide durch Serum in ausgesprochener Weise gebunden werden, in 5fach verdünntem Frosch- und Rinderserum. Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle 4 aufgeführt. Es ergibt sich tatsächlich, daß das 5fach verdünnte Serum dasselbe Glykosid-Bindungsvermögen aufweist wie das unverdünnte Serum.

Tabelle 4. *Versuche mit 5mal verdünntem Frosch- und Rinderserum Vergleich mit den Rinderstandardwerten*

Glykosid	Serum	Konzentration	Stillstand nach Minuten	Verhältnis zu Ringer
Scillaren A	Frosch	1:800000	> 77	
		1:200000	9	1 : 4
	Rind	1:800000	> 77	
		1:200000	14	1 :> 4
Digitoxin	Frosch	1:150000	35	
		1: 40000	9	1 : 4
	Rind	1:150000	> 52	
		1: 30000	8,5	1 : 5

5. Versuche mit Albuminlösung

Das Albumin wurde aus Rinderserum gewonnen. Nach Abtrennen der durch Halbsättigung mit Ammonsulfat gefällten Globuline wurde das Albumin durch Dialyse gegen strömendes Wasser von den Elektrolyten befreit. Schließlich wurde das Albumin durch Eindampfen im Vakuum bei 37° C als Pulver erhalten. Aus diesem Pulver stellten wir eine 4,35%ige Lösung in Ringer her. Dies entspricht dem Mittelwert der nach *Bennhold* (1) im Blutserum vorhandenen Albuminmenge.

Das Froschherz reagiert auf diese Albuminlösung mit einer auswaschbaren Erhöhung der Hubhöhe. Die Frequenz wird nicht verändert. Scillaren A wird in dieser Lösung stark gehemmt. Wenn für Rinderserum das Verhältnis der wirksamen Konzentration gegenüber Ringer 1:4 ist, so beträgt dieses Verhältnis für die Albuminlösung 1:8. Die Stillstandszeiten für Scillaren A 1:200000 in Albuminlösung betragen 65 resp. 48 Minuten, 1:150000 12 und 17 Minuten und 1:100000 7 und 6 Minuten (Abb. 7).

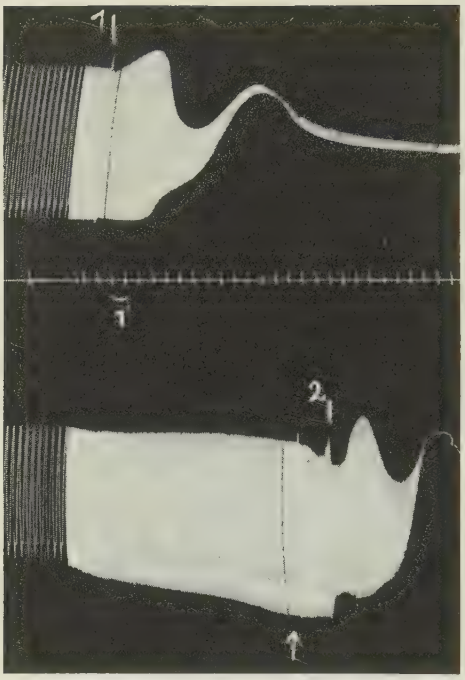

Abb. 7. *Versuch am isolierten Froschherzen.* 1. Scillaren A 1:800000 in Ringer; und 2. Scillaren A 1:100000 in 4,35% Albuminlösung. Stillstandszeiten: 11 Minuten bei 1 und 7 Minuten bei 2. Damit ist die stärkere Glykosid-Hemmung durch Albuminlösung bewiesen.

Lassen wir diese Albuminlösung das Ultrafilter passieren und untersuchen Ultrafiltrat und Rückstand, so ergibt sich: 1. Das *Filtrat* macht Erhöhung der Hubhöhe, hat aber keinen Einfluß auf die Glykosidwirkung (Scillaren A 1:800000 im Filtrat verdünnt, bringt das Herz nach 9 resp. 8 Minuten zum Stillstand); 2. der *Rückstand*, mit Ringer auf das Ausgangsvolumen gebracht, verursacht ebenfalls Zunahme der Herzkraft und hemmt Scillaren A mit gleicher Intensität wie die nicht ultrafiltrierte Albuminlösung.

Albuminlösung unterscheidet sich somit gegenüber genuinem Rinderserum dadurch, daß ihr keine hemmende Wirkung auf das Froschherz zukommt, sie besitzt nur die fördernde Wirkung, die beim Serum, wie oben beschrieben, sich erst sekundär äußert. Auch hat das Ultrafiltrat den gleichen Effekt auf das Froschherz wie die Albuminlösung. In bezug auf die Glykosidbindung verhält sich Albuminlösung grundsätzlich wie Serum, sie ist aber ausgesprochener (z. B. für Scillaren A 2mal stärker). Das Ultrafiltrat der Albuminlösung hat keine Wirkung auf den Glykosideffekt, wie das auch für dasjenige des Serums der Fall ist.

Besprechung

Die vorliegenden Untersuchungen basieren auf dem Vergleich der Wirksamkeit herzwirksamer Glykoside in Ringer einerseits, in Blutserum und Vollblut anderseits. Dabei war vorerst der Effekt von arteigenem und artfremdem Serum auf das verwendete Testobjekt, das isolierte Froschherz, zu prüfen. Unverdünntes Serum jeder Herkunft hat den charakteristischen *Serumeffekt*, der bei gleichbleibender Frequenz primär eine Hemmung, sekundär eine Förderung der Hubhöhe verursacht, die beide spontan abklingen; die erstere ist von kürzerer, die letztere von längerer Dauer. Durch

Ultrafiltration sind die wirksamen Prinzipien des Serumeffektes quantitativ vom Serum abtrennbar. Das Ultrafiltrat wirkt qualitativ und quantitativ gleich wie genuines Serum. Da genuines Blut diesen Serumeffekt nicht aufweist, ist bewiesen, daß der Serumeffekt eine Folge der durch die Gerinnung entstehenden Substanzen ist. Ob der zweiphasische Verlauf des Serumeffektes auf das Froschherz durch eine oder zwei wirksame Substanzen mit entgegengesetzter Wirkung bedingt ist, bleibt abzuklären. Nach *Zipf* (13) könnte es sich um die Wirkung von Adenosintriphosphorsäure handeln.

Herzwirksame Glykoside haben in Ringer und im Serumultrafiltrat *quantitativ* dieselbe Wirkung, deshalb kann eine Beeinflussung der Glykosidwirkung durch den Serumeffekt ausgeschlossen werden, was für den Vergleich der Versuche mit Ringer und mit Serum grundsätzlich wichtig ist.

In Ringer und Serum hat jedes Glykosid die ihm charakteristische quantitative Wirksamkeit. Für beide Nährlösungen sind aber die Wirkungsreihen ganz verschieden. Mit abnehmender Wirksamkeit ergibt sich:

1. *Für Ringer:* Scillaren A–Purpureaglykosid A–Digilanid A–k-Strophanthosid–Digitoxin–Purpureaglykosid B–Digilanid B–Digilanid C.

2. *Für Rinderserum:* Scillaren A–k-Strophanthosid–Purpureaglykosid A und B–Digilanid A und C–Digitoxin–Digilanid B.

Diese Verschiebung der Wirkungsreihe in Rinderserum ist durch das verschiedene Verhalten der Glykoside gegenüber den Eiweißkörpern bzw. dem Albumin des Serums bedingt. Die von *Hoekstra*, *Lendle* und Mitarbeitern beschriebene Erscheinung der Glykosidbindung durch Blutserum haben wir damit nicht nur bestätigt, sondern dieselbe auch in quantitativer Weise für die 8 wichtigsten Reinglykoside erfaßt. Unsere Versuche mit Serum verschiedener Tierarten: Frosch, Katze, Rind und Mensch ergeben grundsätzlich dieselben Resultate. Es bestehen, wie die Tabelle 3 zeigt, nur Unterschiede quantitativer Art. Es unterliegt gar keinem Zweifel, daß *nicht nur artfremdes, sondern auch arteigenes Serum* ein ausgesprochenes Bindungsvermögen für Reinglykoside besitzt. Dieses ist aber für die verschiedenen Sera nicht gleich stark, das arteigene Froschserum ist für Digitoxin etwas schwächer, für Scillaren A hingegen mindestens gleich stark wie artfremdes Serum des Rindes und der Katze. Serum und Vollblut des Menschen haben besonders für Digilanid A, aber auch für Digitoxin ein deutlich stärkeres Bindungsvermögen als Serum von Katze und Rind. Diese Ergebnisse stehen somit im Gegensatz zur Auffassung von *Hoekstra* am Froschherzen und *Genuit* und *Eschbach* am Meerschweinchenherzen, die ausschließlich artfremdem, nicht aber arteigenem Serum ein Glykosidbindungsvermögen zuschreiben. In bezug auf das Verhalten der einzelnen Glykoside können grundsätzlich 2 Gruppen unterschieden werden:

1. *Glykoside*, die gar nicht durch Serumeiweiß gebunden werden. Dazu gehören k-Strophanthosid (Strophosid) und Digilanid C (Cedilanid).

2. *Glykoside*, die von Serumeiweiß gebunden werden, aber in ganz ver-

schiedenem Ausmaße. Wir können dabei *3 Glykosid-Gruppen unterscheiden:* Zur 1. Gruppe mit starker Bindung gehören: Digilanid A, Purpureaglykosid A und Digitoxin. Zur 2. Gruppe gehört Scillaren A, das etwas weniger stark gebunden wird, und zur 3. Gruppe mit noch schwächerer Bindung sind Digilanid B und Purpureaglykosid B zu rechnen.

Im Verhalten der Glykoside im Blutserum bzw. Blut sind somit sowohl *qualitative* Unterschiede, Fehlen der Bindung, wie *quantitative* Unterschiede, verschieden starke Bindung, zu machen. In Hinsicht der qualitativen Unterschiede stimmen unsere Ergebnisse mit jenen von *Lendle* et al. überein (9). Diese Autoren haben auch nachgewiesen, daß die Glykosidbindung der Albuminkomponente des Serums zuzuschreiben ist. Wir können diese Ansicht auf Grund unserer Untersuchungen mit reinem Albumin aus Rinderserum bestätigen, ja unsere Albuminversuche sprechen dafür, daß Albumin allein in einer Konzentration, wie sie dem menschlichen Blut entspricht, sogar wesentlich stärkeres Bindungsvermögen besitzt als Serum oder Vollblut des Menschen. Das Verhältnis der wirksamen Konzentrationen in Ringer zu Albumin beträgt für Scillaren A 1:8, für Serum des Menschen 1:6 und für Vollblut des Menschen 1:4,5. Diese Beobachtung verdient weitere Aufmerksamkeit und steht in Prüfung. Hier sei noch erwähnt, daß der Eiweißgehalt des Froschserums kleiner ist als jener des Serums von Rind und Mensch. Dies ergibt sich aus den relativen Viskositätswerten, sie betragen für das Froschserum 1,49, für Rinderserum 1,87 und für Menschenserum 1,65. Dabei hat das Froschserum für Digitoxin ein schwächeres Bindungsvermögen als jenes von Rind und Mensch.

Lendle et al. haben aus ihren Versuchen berechnet, daß 1 mg Albumin 1 γ Digitoxin zu binden vermag. Aus diesen vorliegenden Versuchen gelangen wir für das Bindungsvermögen des Serums des Menschen für Digitoxin zum genau gleichen Resultat: Erfordert Ringer eine Konzentration von 1:150000 = 0,006 mg/ccm, Serum hingegen eine Konzentration von 1:20000 = 0,05 mg/ccm, und nehmen wir an, daß Serum 4% Albumin enthält, so binden, per ccm berechnet, 40 mg Albumin 0,044 mg Digitoxin bzw. 1 mg = 1 γ Digitoxin. Im Versuch mit reinem Albumin ist nach unseren Versuchen mit Scillaren A noch mit einer wesentlich stärkeren Bindung zu rechnen. Zwischen Eiweiß- bzw. Albuminmolekül und den Molekülen der verschiedenen Glykoside besteht aber graduell ein ganz verschiedenes Verhältnis. Dies ergibt sich aus dem Vergleich Digitoxinbindung durch Menschenserum und Scillaren A-Bindung durch reines Albumin. Die erforderlichen Konzentrationen von Scillaren A für dieselbe Wirkung sind für Ringer 1:800000 bzw. 0,00125 mg/ccm, für die Albuminlösung hingegen 1:100000 bzw 0,010 mg/ccm. Daraus berechnet sich, daß 1 mg Albumin nur 0,22 γ Scillaren A zu binden vermag, d. h. in absoluten Werten wird von Scillaren A 5mal weniger Glykosid gebunden als von Digitoxin.

Damit drängt sich die Frage auf, wie die feststehende Tatsache der zum

Teil sehr ausgesprochenen Hemmung der Glykosidwirkung durch Bluteiweißkörper insbesondere durch das Albumin zustande kommt. Vorerst wird man sich fragen, ob diese Erscheinung auf einer Zerstörung gewisser Glykoside in Blut und Blutserum beruht. Das kann ausgeschlossen werden, denn alle untersuchten Glykoside können stundenlang zusammen mit Blut aufbewahrt werden, ohne daß eine Wirkungsabnahme auftritt. Dazu kommt, daß in den vorliegenden Versuchen die Glykosidserum- oder -Blutlösung stets frisch zur Untersuchung gelangte. Das Wahrscheinlichste ist, daß eine Adsorptionsbindung im Sinne einer schutzkolloidartigen Wirkung durch das Blutalbumin vorliegt. Diese trifft voraussichtlich für alle Glykoside zu, nur ist sie graduell außerordentlich verschieden, im Falle des Strophosid und Cedilanid sehr schwach, im Falle der übrigen Glykoside mehr oder weniger intensiv. Das Albumin hat nach dieser Auffassung für alle Glykoside eine Vehikelfunktion, nur ist der Glykosid-Eiweißkomplex bei Strophosid und Cedilanid so locker, daß er praktisch nicht in Erscheinung tritt, während dies für die übrigen Glykoside der Fall ist. Wir lehnen damit die Auffassung von *Hoekstra* ab, der annimmt, daß der Albumin-Glykosidkomplex beim arteigenen Serum als Ganzes in die Zelle eindringt, während jener mit artfremdem Serum vorerst gespalten werden muß. Unsere gegensätzliche Auffassung wird vor allem durch den Nachweis gestützt, daß jene Glykoside, die überhaupt faßbar durch Blutalbumin gebunden werden, eine analoge Bindung im arteigenen Blut aufweisen.

Von besonderem Interesse erscheint uns die Tatsache der graduell verschiedenen Bindung der einzelnen Glykoside durch das Blut. Dies läßt eine selektive Beziehung zwischen chemischer Konstitution der Glykoside und der Adsorptionsbindung durch das Blutalbumin vermuten. *Lendle* et al. (10) lehnen eine Bindung durch Adsorption ab und führen dieselbe auf Nebenvalenzen, vielleicht der freien Laktongruppe, der Glykoside zurück. Dies ist deshalb unwahrscheinlich, weil die Laktongruppe aller Glykoside außer Scillaren A frei und identisch, die Glykosidbindung aber sehr verschieden ist. Vor allem wäre es schwer, das differente Verhalten der 3 Digilanide A, B und C nach *Lendle* zu erklären, indem hier nicht nur die Laktongruppe, sondern auch die Zuckerkomponente nebst der Acetylgruppe identisch sind. Versucht man diese selektive Erscheinung der Glykosidbindung durch Blutalbumin mit der chemischen Konstitution der Glykoside in Zusammenhang zu bringen, dann wird man am zweckmäßigsten das Verhalten der 3 Lanataglykoside Digilanid A, B und C zugrunde legen. Sie vertreten die 3 Gruppen der Glykosid-Albumin-Komplexbindung, indem Digilanid A sehr stark, Digilanid C gar nicht gebunden wird und Digilanid B eine Mittelstellung zwischen Digilanid A und Digilanid C einnimmt. Diese 3 Glykoside, die von *Stoll* (14) rein dargestellt und differenziert worden sind, unterscheiden sich chemisch ausschließlich in der Aglykon-Gruppe. Der Unterschied liegt darin, daß Digilanid A im Cyclopentanoperhydrophenanthren-Kerngerüst nur

2 OH-Gruppen in Stellung 3 und 14, Digilanid B 3 OH-Gruppen in Stellung 3, 14 und 16 und Digilanid C ebenfalls 3 OH-Gruppen in Stellung 3, *12* und 14 enthalten. *Rothlin* (15) konnte zeigen, daß die verschiedene Wirkungsweise dieser 3 Glykoside auf diese chemischen Unterschiede zurückzuführen ist. Wir glauben nun, daß die Ursache für das verschiedene Verhalten der 3 Lanataglykoside in bezug auf die selektive Albuminbindung ebenfalls mit der chemischen Verschiedenheit der 3 Aglykone im Zusammenhang steht. Dafür spricht auch, daß Digilanid A, Purpureaglykosid A und Digitoxin, deren Aglykone identisch, die Zuckerkomponenten hingegen verschieden sind, zur Gruppe der stark von Albumin gebundenen Glykoside gehören. Ganz analoge Verhältnisse finden wir für Digilanid B und Purpureaglykosid B. Da alle Atome im Molekül sich gegenseitig beeinflussen und für die physikalischen, chemischen und pharmakodynamischen Eigenschaften verantwortlich sind, ist es recht schwierig, den Ort der Glykosid-Albuminbindung zu lokalisieren. Aber wir glauben, auf Grund der Verhältnisse für die 3 Lanataglykoside Digilanid A, B und C die Verschiedenheit der chemischen Konstitution der Aglykone als primäre Ursache sowohl für die physikalisch-chemische Erscheinung der Glykosid-Albuminbindung als auch für die pharmakodynamische Wirkungsweise verantwortlich machen zu können.

Schließlich fragen wir uns, ob zwischen der experimentell festgestellten selektiven Glykosid-Bluteiweißbindung und der pharmakologisch-therapeutischen Wirkungsweise Beziehungen bestehen. Solche sind in erster Linie in Hinsicht auf die Raschheit der Wirkung und die Wirkungsdauer zu erwarten. Es ist geradezu auffallend, daß jene 2 Glykoside, k-Strophanthosid und Digilanid C, die im Experiment keine Eiweißbindung erkennen lassen, bei intravenöser Verabreichung die rascheste Wirkung besitzen. Für die Strophanthus-Glykoside ist das eine alte klinische Erfahrung, für Digilanid C hingegen ist diese Feststellung deshalb eine Ueberraschung, weil dieses Glykosid, seiner Herkunft entsprechend, in bezug auf die Wirkungsweise eher der Gruppe der übrigen Digitalis lanata-Glykoside und der Digitalis purpurea einzuordnen wäre, die ein langsameres Wirkungstempo aufweisen. Es gilt dies vor allem für Digitoxin, Digilanid A und Purpureaglykosid A. Purpureaglykosid B und Gitoxin sind klinisch nicht genügend geprüft. Pharmakologisch kommt dem Digilanid C eine Mittelstellung zu zwischen Digilanid A, Purpureaglykosid A und Digitoxin einerseits, den Glykosiden der Strophanthus und der Scilla anderseits. Mit der raschen Wirkung des Digilanid C geht die im Vergleich zu allen Glykosiden der Digitalis purpurea und lanata größere Wirksamkeit beim Warmblüter parallel. So beträgt die Hatcherdosis von Digilanid C 0,28 mg/kg, jene für Digitoxin 0,4 mg/kg, für Purpureaglykosid A resp. B 0,368 resp. 0,369 mg/kg und für Digilanid B 0,4 mg/kg. Die klinische Erfahrung ergibt ferner, daß dem Digilanid C auch bei oraler Anwendung eine raschere Wirkung zukommt als den übrigen Gly-

kosiden der Digitalis lanata und purpurea. Auch diese Erfahrung ist wohl damit in Zusammenhang zu bringen, daß dieses Glykosid nebst guter Resorption keine Eiweißbindung eingeht.

Auch in Hinsicht auf die therapeutische Wirkungsdauer liegen ähnliche Verhältnisse vor wie für den Wirkungseintritt. Digitoxin mit starker Eiweißbindung steht mit der anhaltenden Wirkung und Speicherungstendenz an erster Stelle, weshalb die Dosierung mit entsprechender Vorsicht gehandhabt werden muß. Die Strophanthusglykoside Ouabain und Strophosid hingegen sind erfahrungsgemäß von kürzerer Wirkung, dem Digilanid C dürfte in dieser Hinsicht eine Mittelstellung zukommen, vielleicht mit größerer Annäherung an Strophosid als an Digitoxin.

Wenn auch diese Betrachtung eine noch eingehendere experimentelle wie klinische Analyse erfordert, so dürfte doch anzunehmen sein, daß die selektive Bluteiweißbindung mit der spezifischen Wirkungsweise der Glykoside in ursächlichem Zusammenhang steht.

Schlußfolgerungen

1. Blutserum arteigener und artfremder Herkunft hat auf das isolierte Froschherz eine charakteristische Wirkung, die in primärer Hemmung und sekundärer Förderung besteht. Dieser Serumeffekt beruht auf wirksamen Prinzipien, die bei der Blutgerinnung entstehen; sie sind vollständig ultrafiltrierbar. Heparinisiertes Vollblut hat keinen Serumeffekt.

2. Die Glykosidwirkung ist quantitativ identisch in Ringer und in Serumultrafiltrat; daraus wird geschlossen, daß der Serumeffekt an sich die Glykosidwirkung quantitativ nicht beeinflußt.

3. Die 8 am isolierten Froschherzen untersuchten Reinglykoside ergeben in Ringer und in Serum verschiedene Wirkungsreihen; sie lauten in abnehmender Wirkung für *Ringer:* Scillaren A – Purpureaglykosid A – Digilanid A – k-Strophanthosid – Digitoxin – Purpureaglykosid B – Digilanid B – Digilanid C; für *Serum:* Scillaren A – k-Strophanthosid – Purpureaglykosid A und B – Digilanid A und C – Digitoxin – Digilanid B. Daraus ergibt sich folgende Glykosidbindungsreihe: k-Strophanthosid und Digilanid C keine Bindung – Purpureaglykosid B und Digilanid B schwache Bindung – Scillaren A mittelstarke Bindung und Digilanid A, Purpureaglykosid A und Digitoxin starke Bindung.

4. Am Froschherzen geprüft binden Sera von Frosch, Katze, Rind und Mensch die genannten Glykoside qualitativ gleich, quantitativ erweist sich Froschserum nur sehr wenig schwächer, was auf den geringeren Eiweißgehalt desselben zurückgeführt wird. Vollblut und Serum des Menschen verhalten sich gleich. Es besteht kein Unterschied zwischen arteigenem und artfremdem Serum.

5. Die glykosidbindende Eiweißkomponente des Blutes bzw. Blutserums

ist das Albumin. Albuminlösung weist stärkeres Bindungsvermögen auf als Blutserum.

6. Das Glykosidbindungsvermögen des Blutserums und des Albumins wird auch durch Ultrafiltrationsversuche bestätigt.

7. Die selektive Glykosidbindung durch Blutalbumin wird als schutzkolloidartige Adsorptionserscheinung betrachtet, der graduelle Unterschied, der für die verschiedenen Glykoside besteht, wird auf die chemische Konstitution der Aglykon-Komponente zurückgeführt.

8. Es besteht ein weitgehender Parallelismus zwischen selektiver Glykosidbindung an Blutalbumin und der pharmakologisch-therapeutischen Wirkungsweise der Glykoside insbesondere in Hinsicht des Wirkungseintritts und der Wirkungsdauer.

1. *Bennhold, H., Kylin, E.*, und *Ruszuyak, St.:* Die Eiweißkörper des Blutplasmas. Th. Steinkopff, Dresden und Leipzig 1938. – 2. *Yernaux, N.:* Arch. intern. Pharmacodyn. **18,** 117 (1908). – 3. *Werschinin, N.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **60,** 328 (1909). – 4. *Oppenheimer, E.:* Biochem. Z. **55, 134** (1913). – 5. *Hoekstra, R. A.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162,** 649 (1931). – 6. *Hoekstra, R.A.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162,** 663 (1931). – 7. *Brücke, F. Th.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175,** 92 (1934). – 8. *Genuit, H.*, und *Eschbach, W. H.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188,** 302 (1938). – 9. *Haarmann, W., Hagemeier, A.*, und *Lendle, L.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194,** 205 (1940). – 10. *Haarmann, W., Korfmacher, K.*, und *Lendle, L.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194,** 229 (1940). – 11. *Lendle, L.*, und *Pusch, P.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177,** 550 (1935). – 12. *Barkan, G.:* Verfahren zur Bestimmung des leicht abspaltbaren Bluteisens: Handbuch d. biol. Arbeitsmeth. Abt. V, Teil 8, 1208. – 13. *Zipf, K.:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157,** 97 (1930). – 14. *Stoll, A.:* The Cardiac Glykosides. The Pharmaceutical Press, 23, Bloomsbury-Square, London WC 1. *Stoll, A., Renz, J.*, und *Kreis, W.:* Helv. chim. Acta **20,** 1484 (1937). – 15. *Rothlin, E.:* Schweiz. med. Wschr. **70,** 577 (1940).